



Anabela da Silva
Carlos

Infecções por *Escherichia coli* em ambiente hospitalar

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação da Professora Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso, Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

o júri

presidente

Professor Doutor António Carlos Matias Correia, Professor Associado com agregação, Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Professora Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso, Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Doutora Ana Sofia Direito dos Santos Duarte, Investigadora de Pós-Doutoramento, CESAM, Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Quero expressar o meu mais sincero agradecimento a todos aqueles que de alguma forma tenham contribuído para a elaboração desta Dissertação/Tese de Mestrado.

Começo por agradecer ao Hospital Infante D. Pedro, toda a equipa técnica do mesmo pela colaboração prestada na pesquisa de dados, e pela confiança que em mim depositaram, permitindo-me executar todas as análises necessárias para o presente estudo e assim recolher os resultados referentes às mesmas, sem os quais este estudo jamais teria sido exequível.

Agradeço também à patologia clínica do Hospital Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte, por gentilmente me ter cedido material bibliográfico e à Doutora Sónia Mendo que me orientou a dissertação.

Por último, quero expressar o mais profundo agradecimento à minha família, pela sua orientação e apoio incondicional em todos os momentos, em especial à minha mãe, e irmão por me ajudarem em tudo que precisei e por terem paciência comigo ao longo da elaboração do meu trabalho.

Em especial, ao Nuno, quero agradecer por estar sempre, incondicionalmente, ao meu lado, nos momentos bons e maus, e por me ajudar em tudo que lhe solicitei, pela compressão e paciência que teve comigo durante este período.

A todos o meu MUITO OBRIGADO!!!!

Palavras - chave

Infecção do Tracto urinário, etiologia ITU, resistência bacteriana

resumo

A etiologia microbiana das ITU tem-se mantido mais ou menos constante ao longo do tempo, sendo a *E. coli* predominante quer nas infecções adquiridas na comunidade quer nas adquiridas no hospital. No entanto, os patogénicos apresentam actualmente algumas alterações no que respeita às resistências dos antimicrobianos. Deste modo, é imprescindível conhecer as suas susceptibilidades de forma a tornar a terapêutica mais atempada, rápida e eficaz sem, no entanto contribuir para a emergência de novas estirpes resistentes.

O **principal objectivo**: determinar quais os microrganismos nas ITU e o perfil de sensibilidade do mais frequente. O estudo incidiu sobre amostras de urinas de utentes com suspeita de infecção urinária, remetidas ao Laboratório do Hospital de Aveiro durante os meses de Janeiro e Fevereiro de 2007. As amostras foram incluídas no estudo de um modo aleatório, sem preferência por qualquer patologia ou proveniência, sendo processadas segundo o protocolo do serviço. A identificação dos germes e determinação da sensibilidade foram efectuadas no sistema VITEK.

Resultados : das 135 amostras positivas, *E. coli* foi o mais frequente (53%) e mostrou-se mais sensível à gentamicina e nitrofurantoína e menos sensível à ampicilina.

Conclusão: a maior frequência de ITU ocorre nos primeiros e últimos anos de vida (bebés/crianças e idosos), com predomínio no sexo feminino. Quanto à eleição do antimicrobiano para o tratamento das ITU, esta deve basear-se, sempre que possível, nos resultados laboratoriais. Mas, com base nos nossos dados que obtivemos e de entre os antimicrobianos testados, os fármacos mais adequados são: gentamicina, nitrofurantoína e cefalotina.

Este e outros estudos análogos permitem evitar o aumento das resistências microbianas, contribuindo para o decréscimo de fracassos terapêuticos e efeitos colaterais indesejáveis (aumento das novas estirpes resistentes), permitindo assim a redução de gastos excessivos e desnecessários, quer individuais, quer institucionais.

keywords**Urinary Tract Infection, ITU etiology, bacterial resistance****abstract**

The ITU microbial etiology has been maintained in an unchanging position all over the years, being *E. coli* the predominant as in the community acquired infections as in the hospital ones.

Although, currently, the pathogens presents some changes in what it concerns the antimicrobial resistance. In this way, it is crucial to know its susceptibility in order to make a faster, postponed and efficient therapeutic without the risk of new resistant lineages emergency.

The main objective: define which are the ITU microorganisms and the more frequent one sensibility profile. The study was about the patients' urine samples suspected of Urinary Tract Infection, which were sent to Aveiro's Hospital during January and February 2007. Samples were included in the study in an aleatory way with no preference for any kind of pathology or source, being processed according to the service protocol. The identification of germs and determination of sensitivity were made in VITEK system.

Results: from 135 positive samples, *E. coli* was the most common (53%) and showed more sensibility to gentamycin and nitrofurantoin and less sensibility to ampicillin.

Conclusion: ITU often appears in humans' first or last days of life (babies, children and older people), mainly in the female gender. In what it concerns the ITU antimicrobials election, it should be based, as long as possible, in laboratorial results. According to the studied facts we based ourselves, the more appropriate drugs are: gentamycin, nitrofurantoin and cefalotin.

This and other annual studies help us to prevent the microbial resistance to grow, and make collateral damages and therapeutic failures decrease (increase of new resistant race), preventing unnecessary individual or institutional expenses.

Índice

Introdução.....	1
Objectivos.....	24
Metodologia.....	25
Resultados.....	32
Discussão.....	38
Conclusão.....	40
Bibliografia.....	41

Índice de Figuras, Gráficos, Quadros e Tabelas

Figura 1: Anatomia do Sistema Urinário	5
Figura 2: Fotografia de Microscópio Electrónico de <i>E. coli</i> exibindo fímbrias.....	11
Figura 3: VITEK® - Aparelho automatizado para testes de identificação e susceptibilidade	27
Figura 4 : Gram Positivos.....	28
Figura 5: Gram Negativos.....	28
Gráfico 1 : Uroculturas positivas e negativas	32
Gráfico 2 : Uroculturas Positivas.....	34
Gráfico 3 : As quatro estirpes mais frequentes neste estudo, tendo em conta a faixa etária dos utentes	36
Gráfico 4: Teste de Sensibilidade aos Antibióticos – <i>E. coli</i>	37
Quadro 1: As Quinolonas	20
Tabela 1: Comportamento bioquímico de <i>E. coli</i>	12
Tabela 2: Principais grupos de cefalosporinas	19
Tabela 3 : Resultados das Uroculturas	32
Tabela 4 : Resultados das Uroculturas.....	33
Tabela 5 : Relação de bactérias isoladas nas uroculturas positivas.....	34
Tabela 6 : Distribuição das 135 Uroculturas Positivas segundo o sexo	35
Tabela 7 : Distribuição das Estirpes segundo a Faixa Etária.....	45

Abreviaturas e Siglas

ADH	Arginina dihidrolase
AMP ^r	Resistência à ampicilina
AMT ^r	Resistência a antibióticos
BG -	Bacilos Gram Negativos
BG +	Bacilos Gram Positivos
CLED	Cysteine lactose electrolyte deficient agar
EPEC	<i>E. coli</i> Enteropatogénica
EIEC	<i>E. coli</i> Enteroinvasiva
EHEC	<i>E. coli</i> Enterohemorrágica
ETEC	<i>E. coli</i> Enterotoxígena
EAEC	<i>E. coli</i> Enteroagregativa
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
GNI	Carta de identificação de Gram Negativos
GNS	Carta de sensibilidade de Gram Negativos
GPI	Carta de identificação de Gram Positivos
ITU	Infecção do Tracto Urinário
IU	Infecção Urinária
LDC	Lisina descarboxilase
MUG	Substrato 4 metilumbeliferil- β -glicorunídio
MC	Membrana Celular
MLS	Macrólidos-lincosamidas-streptograminas
ONPG	Teste da β -galactosidase
ODC	Ornitina descarboxilase
PMN	População Microbiana Normal
PC	Parede Celular
PBPs	Penicilin Binding Proteins - alvo dos antibióticos β -lactâmicos
TSA	Teste de Sensibilidade a Antibióticos
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
YBC	Cartas Bioquímicas para leveduras

Introdução

A definição de Infecção Urinária engloba todos os processos patológicos caracterizados pela presença de microrganismos (geralmente bactérias) no aparelho urinário. Pode ocorrer em diversos locais do tracto urinário, com diferentes intensidades que vão desde a presença de bactérias na urina, sem agressão tecidual, à invasão bacteriana dos tecidos com sinais de resposta imune e inflamatória por parte do hospedeiro. (LEONÉS 2002 et al)

As Infecções Urinárias (IU) são classificadas, de acordo com a localização anatómica, em “Infecções do tracto urinário superior” e “Infecções do tracto urinário inferior”. **Pielonefrite** e **cistite** são as designações utilizadas para classificar os processos inflamatórios causados, principalmente, por infecções bacterianas, envolvendo respectivamente o rim e a bexiga, podendo ser agudas ou crónicas, de acordo com a história clínica.

A cistite aguda é a mais comum e corresponde a um processo de resposta inflamatória do epitélio vesical à invasão bacteriana. É geralmente sintomática e, na maioria dos casos, uma situação aguda e breve, afectando apenas a superfície da bexiga. Se a infecção for persistente ou crónica podem estar afectadas camadas mais profundas. A pielonefrite ocorre quando a IU atinge o tracto urinário superior (parênquima renal) e é uma infecção mais grave. (NABER 2000)

Tipos de IU no adulto

- Cistite aguda, não complicada
- Pielonefrite, não complicada
- Cistite aguda, recorrente
- IU complicada, com ou sem pielonefrite
- Bacteriúria assintomática

(Adaptado de NABER 2000)

Etiologia

A invasão do aparelho urinário saudável está condicionada a um grupo restrito de microrganismos que possuem a capacidade, mediante a expressão de factores de virulência, de ultrapassar os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Na infecção adquirida na comunidade, os agentes etiológicos mais frequentemente encontrados em indivíduos sem factores de risco específicos são, por ordem de frequência: *Escherichia coli*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Enterococcus faecalis* (HOOTON 2000, ROLO F. et al, 2008).

Fisiopatologia das IU (transmissão)

As infecções urinárias resultam da virulência das bactérias e de uma série de factores específicos e inespecíficos das defesas do hospedeiro. A interacção destes factores determina a susceptibilidade individual à IU. Os microrganismos podem chegar ao tracto urinário pela via hematogénea ou linfática, mas inúmeras evidências clínicas e experimentais apontam para o facto de que a maioria das IU ocorre por via ascendente, a partir da área periuretral, por bactérias da flora intestinal (VIGOA 1998).

No caso de *Escherichia coli* (*E. coli*), esta liga-se aos receptores da superfície do epitélio urinário através das fímbrias do tipo 1 ou das fímbrias P. Uma vez estabelecido o contacto, a bactéria entra nas células onde se replica em grande número. As interacções entre *E. coli* e as células podem, também, desencadear a libertação de citocinas pró-inflamatórias que actuam no afluxo de leucócitos polimorfonucleares ao epitélio urinário (KOK e ZUCCOLOTTO, 2003).

Infeções Urinárias (abordagem geral)

As ITU são uma das principais causas de consulta nos cuidados de saúde primários e ocupam o segundo lugar das doenças infecciosas, depois das infeções respiratórias (HORCAJADA, 2005). Têm como agentes etiológicos bactérias e, em menor número, fungos e vírus. São, na sua maioria, monobacterianas e mais frequentes em mulheres e homens a partir dos 50 anos, tendo como principais responsáveis *Escherichia coli* (85%), outras *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* coagulase negativos e *Enterococcus faecalis* (ALONSO 2001).

A infeção do tracto urinário resulta da interacção entre um microrganismo e um hospedeiro, sendo caracterizada pela colonização e invasão do sistema urinário por microrganismos patogénicos. A sua classificação baseia-se não só na localização e frequência de infeção como nos factores que a podem complicar. (KRIGER, 2002) (PUJOL et al, 2002) (GARCIA et al, 2006).

Uma infeção urinária corresponde a uma relação de forças entre a agressividade do agente patogénico e a resposta imunitária do hospedeiro. É desse equilíbrio que decorre o grau de gravidade da infeção. Há, naturalmente, factores que aumentam a agressividade das bactérias e há também factores que aumentam o risco para o hospedeiro, nomeadamente um défice imunitário, uma hospitalização, entre outros.

A incidência de infeções urinárias é, aproximadamente, 10 vezes superior na mulher. Nas mulheres a incidência aumenta também com a idade, mais de 20% das mulheres já sofreram pelo menos de uma infeção urinária nas suas vidas (CLAYTON & STOCK, 2002).

Cerca de 25% das mulheres adultas com um primeiro episódio de infeção urinária irão sofrer recorrências (GUPTA 2001).

Nem sempre uma infeção urinária é denunciada por sintomas. Por vezes, ela está instalada e não há queixas, acabando por ser comprovada microbiologicamente quando se fazem, por exemplo, análises de rotina. Porém, na generalidade, há sinais bem conhecidos que levam a suspeitar de uma infeção, quase todos eles relacionados com a micção: dificuldade em esvaziar a bexiga, dor e ardor, sensação de peso vesical, aumento da frequência de micção, entre outros.

Mas, segundo SILVA 2005, há outros sintomas que se podem assemelhar a uma infeção urinária, mas que não correspondem a este quadro: é o que se passa com algumas cistites, com determinadas neoplasias e disfunções miccionais.

A etiologia microbiana tem-se mantido mais ou menos constante ao longo dos anos, sendo *E. coli* predominante quer nas infeções adquiridas na comunidade, quer

nas adquiridas no hospital. A etiologia das infecções urinárias é também afectada por factores subjacentes ao doente, como a idade, diabetes e cateterização.

Breve descrição Anatomo-Fisiológica do Tracto Urinário

O sistema urinário tem como função eliminar produtos desnecessários, regular o volume de água, concentração iónica e o pH do sangue (SEELEY et al., 1997).

O sistema urinário é composto por dois rins, dois ureteres, uma bexiga e uma uretra (Figura 1). Os rins estão localizados na cavidade abdominal, o direito logo abaixo do fígado e o esquerdo abaixo do baço. Os ureteres vão desde o rim até à bexiga, localizada na cavidade pélvica.

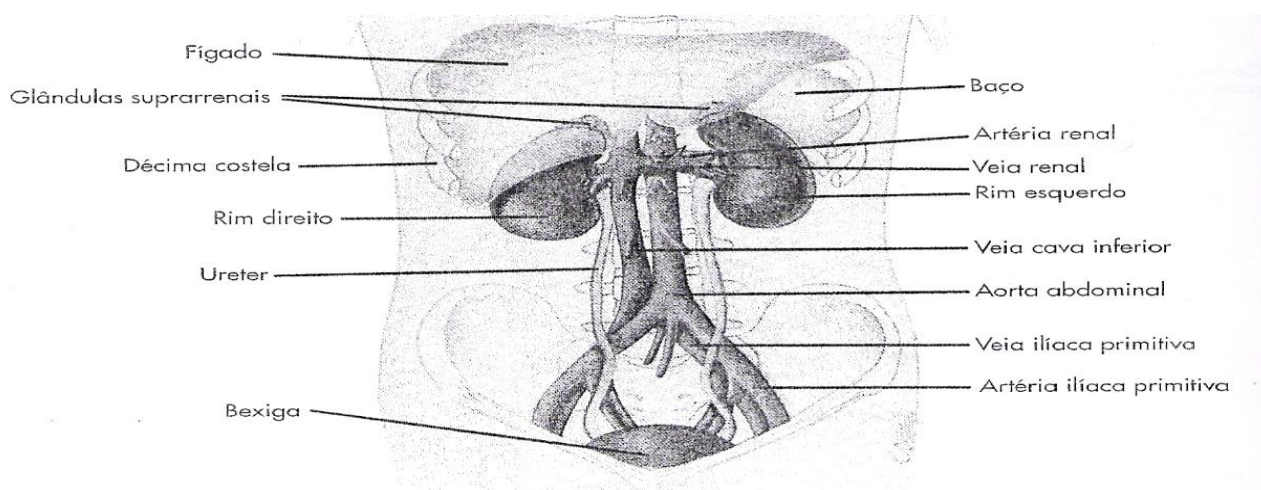


Figura 1 – Anatomia do Sistema Urinário;

Fonte: SEELEY et al, 1997

O aparelho urinário é responsável pela manutenção do meio interno do organismo, fazendo a regulação do teor da água e sais minerais e a eliminação, através da urina, de resíduos nitrogenados, formados durante o metabolismo celular.

O mecanismo de defesa mais eficaz do tracto urinário consiste na diluição e arrastamento dos microrganismos através do fluxo da urina, durante a micção.

A elevada osmolaridade, o conteúdo elevado em ureia e ácidos orgânicos, o baixo pH da urina, a presença de proteínas com efeito bacteriano e os baixos níveis de glucose, inibem o crescimento de muitas espécies bacterianas (SEELEY 1997).

Prevalência das ITU

Segundo HEILBERG e SCHOR (2003), a prevalência das infecções das vias urinárias varia com o sexo e a idade do paciente. Ocorre em todas as idades, do recém-nascido ao idoso.

Durante o primeiro ano de vida, devido ao maior número de malformações congénitas, especialmente da válvula da uretra posterior, surge frequentemente no sexo masculino (ALPER 2005, MCTAGGART 2005).

Na vida adulta, como foi referido anteriormente, a incidência de ITU eleva-se e o predomínio no sexo feminino mantém-se, com picos de maior frequência no início, relacionado ou com a actividade sexual, com a gestação ou com a menopausa.

Assim, segundo SILVA 2005, na mulher, a susceptibilidade à ITU é maior, porque no sexo feminino o reservatório vaginal está junto à desembocadura da uretra e esta é muito curta, além de que não tem a protecção de algumas secreções fortemente antibacterianas como as que existem na próstata masculina. Na prática, isto significa que as bactérias têm a tarefa simplificada na sua ascensão no sistema urinário.

Na mulher grávida as infecções urinárias são mais frequentes e, muitas vezes, na fase inicial da gravidez. Sem quaisquer sintomas, podendo ter, em alguns casos, consequências graves para esta ou para o feto: maior frequência de infecções febris severas e possivelmente partos prematuros (VENTURA 2004, COLGAN 2006). As alterações mecânicas e fisiológicas da gravidez contribuem também para infecções do tracto urinário.

Segundo HEILBERG 2003, no homem idoso, além da doença prostática e suas implicações, a ITU pode ser decorrente de estreitamento uretral e outras anormalidades anatómicas. Na mulher idosa, além da menopausa, alterações anátomo-funcionais da bexiga, entre outros, associam-se a patologias coexistentes em ambos os sexos, como a Diabetes, Acidentes Vasculares Cerebrais, tornando deste modo a ITU mais prevalente nesta faixa etária.

A etiologia das infecções urinárias é muito variada. A maioria das infecções agudas é causada por Bacilos Gram negativos.

E. coli é, por si só, responsável por cerca de 80% das infecções urinárias não complicadas. Se existem factores predisponentes, aumenta a incidência de outros Bacilos Gram negativos (BG-). Os Cocos Gram positivos são muito menos frequentes; unicamente se destacam *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus saprophyticus*, que levam a 10% das infecções não complicadas em mulheres jovens (ANGLADA, 1997).

Existem outros autores, como por exemplo MORAIS 2007, que embora concordem que *E. coli* é o microrganismo mais prevalente neste tipo de infecção (52,1%), referem que os microrganismos que lhe sucedem são *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

As Enterobactérias têm uma distribuição ubiqüitária, encontrando-se também nos solos, plantas e águas. Esta família é constituída por diferentes géneros de bactérias tais como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* entre outros.

Tratamento das Infecções Urinárias

As infecções urinárias são uma das principais causas de consulta e ocupam o segundo lugar das doenças infecciosas, depois das infecções respiratórias ALONSO 2001, HORCAJADA 2005.

Na prática clínica, o uso de testes de diagnóstico, a interpretação dos sintomas e a iniciação do tratamento das ITU são muito variados (WILSON 1995, ZORC 2005). Da necessidade de uniformizar procedimentos, surgem diversas orientações, criadas por vários grupos de trabalho multidisciplinares. Estas são desenvolvidas com base em revisões sistemáticas das evidências de boas práticas e são constituídas por conjuntos de recomendações e protocolos clínicos que têm como finalidade principal a minimização dos erros e a diminuição dos custos, no diagnóstico e tratamento de doentes com IU.

Contudo, frequentemente se observa um aumento na prevalência de uropatógenos resistentes aos antibióticos, com frequência, o que leva à diminuição da probabilidade do êxito dos tratamentos empíricos (CZAJA 2006).

O tratamento de doentes com IU sintomáticas tem como objectivo o alívio dos sintomas, a erradicação total do microrganismo e a prevenção de recorrências. O antibiótico escolhido deve ser bem tolerado, bem absorvido, produzir concentrações elevadas e por tempo elevado, ter um espectro de actividade limitado aos uropatógenos conhecidos ou sob suspeita e ser economicamente acessível.

HORCAJADA 2005 referiu que a sensibilidade de um microrganismo pode mudar com o tempo, mesmo durante o tratamento com um fármaco, induzindo resistências que levam a posteriores fracassos terapêuticos.

Estudos estatísticos como os de SUSAN e HORCAJADA 2005 revelam que a resistência aos antimicrobianos é um problema clínico actual bastante significativo, principalmente em ambiente hospitalar, pois o vasto uso de antibióticos em hospitais selecciona microrganismos, tornando-os frequentemente multiresistentes.

A resistência bacteriana a drogas pode resultar por síntese de alvos modificados ou de enzimas que inactivam o antibiótico, ou ainda por alteração da permeabilidade da parede da bactéria, impedindo que a concentração intracelular do fármaco seja alcançado. Estes mecanismos de resistência devem-se, principalmente, a modificações genéticas no microrganismo, que ocorrem por mutação cromossómica ou por aquisição de um plasmídeo ou de transposição.

PEDREIRA (1999) e SUSAN (2005) salientaram: “O uso inadequado de antibióticos agrava ainda mais o problema pelo aumento da selecção de multiresistentes”.

MÁZON 2000 refere também que nem sempre o clínico tem conhecimento da sensibilidade e resistência real do agente antes de instituir a terapêutica, sendo esta baseada em estimativas da sensibilidade da maioria dos agentes que causam a doença.

As decisões terapêuticas devem ser guiadas pelo conhecimento do perfil de sensibilidade do microrganismo aos antibióticos. Contudo, a tendência actual consiste na iniciação terapêutica antes do resultado dos testes microbiológicos, ou até a utilização de uma terapêutica empírica sem a execução de uroculturas (OSSWALD, 2000; GUPTA 2001).

Escherichia coli

Escherichia coli, pertencente à família Enterobacteriaceae, (RUIZ & HORCAJADA, 2002), é o anaeróbio facultativo mais abundante do tracto gastrointestinal, sendo também, entre os microrganismos que integram a flora normal, aquele que causa, com maior frequência, infecções no sistema urinário, feridas, pneumonia, entre outras infecções. Está implicada tanto em infecções adquiridas na comunidade como em infecções hospitalares. Inicia por vezes a colonização no tracto urinário logo após o parto e permanece ali ao longo da vida, sendo geralmente inofensivo.

A família Enterobacteriaceae constitui o grupo mais comum de bacilos Gram-negativos cultivados em laboratório clínico. A taxonomia destes microrganismos é complexa e está a sofrer rápidas mudanças desde a introdução de técnicas que medem a distância evolutiva, como a hibridização DNA-DNA e a sequenciação de ácidos nucleicos (FERREIRA, 2000).

Para JAWETZ 2005, a família das enterobactérias apresenta as seguintes características: são bacilos Gram-negativos, móveis com flagelos peritríquios ou imóveis, crescem em meios de peptona ou extracto de carne sem acréscimo de cloreto de sódio ou outros suplementos; crescem adequadamente em agar de MacConkey; apresentam crescimento aeróbico e anaeróbico (são anaeróbios facultativos); fermentam a glucose em vez de a oxidar, frequentemente com produção de gás; são positivos para a prova da catalase, negativos para a prova da oxidase e reduzem o nitrato a nitrito.

Tipicamente, *E. coli* apresenta reacções positivas para indol, lisina descarboxilase e fermentação do manitol, produzindo gás a partir da glicose. Os microrganismos isolados da urina podem ser rapidamente identificados como *E. coli* pela hemólise em agar-sangue, pela morfologia típica das colónias com “brilho” em meios diferenciais, agar EMB (agar eosina azul de metileno) e pelo teste indol positivo.

Mais de 90% das *E. coli* isoladas são positivas para β -glicuronidase quando se utiliza o substrato 4-metilumbeliferil- β -glicuronídeo (MUG) (JAWETZ 2005).

E. coli, vulgarmente designada por colibacilo, é a espécie de maior importância clínica.

Características

Quanto às suas características culturais, na sua maioria, as estirpes fermentam rapidamente a lactose, as colónias no meio MacConkey têm cor rosada, além de serem lisas, lustrosas e translúcidas. No meio lactosado com cistina e azul de bromotimol, pobre em electrólitos, as colónias são lisas, circulares, com cerca de 1,5mm de diâmetro, opacas e amarelas se a estirpe fermenta a lactose, ou azuis se *E. coli* não fermenta.

Na gelose sangue, as colónias de algumas estirpes são rodeadas por zonas de hemólise. *E. coli* não é inibida pelos sais biliares do meio MacConkey, mas sim pelo citrato do meio Leifson, assim como pelo selenito de sódio, tetrionato de sódio, verde brilhante e outras substâncias usadas nos meios selectivos para as salmonellas e shigellas. O seu crescimento é também, inibido pelo cloreto de sódio a 7% dos meios salgados utilizados para isolamento dos estafilococos (FERREIRA, SOUSA 2000).

A aderência bacteriana ao uroepitélio estabelece o primeiro estágio na patogénese da infecção urinária, podendo, de acordo com as características das estirpes, invadir o tracto urinário baixo e/ou superior, mesmo na ausência de obstrução ou instrumentação cirúrgica.

As fímbrias bacterianas desempenham um importante papel na aderência bacteriana às superfícies mucosas (Figura 2). Nas estirpes uropatogénicas de *E. coli* predominam as fímbrias do tipo 1, fímbrias P e as Adesinas X.

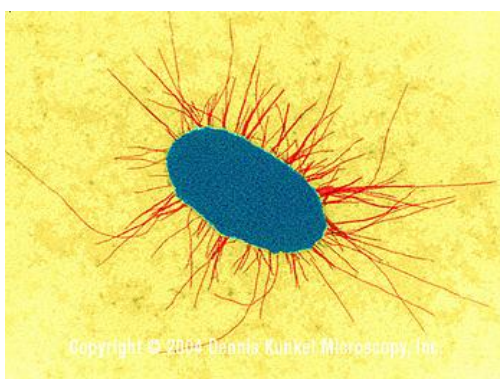


Figura 2: Fotografia de Microscópio Electrónico de *E. coli* exibindo fímbrias

Fonte: <http://education.denniskunkel.com>

As fímbrias P desempenham um papel primordial na infecção urinária, ligando-se a receptores α -D-galactopiranosil-(1-4)-p-D-galactopiranosídeo presentes no uroepitélio e nos antígenos dos eritrócitos do grupo P (FERREIRA, 2000) .

A adesão de *E. coli* a células epiteliais tem sido inibida, *in vitro*, por anticorpos contra fímbrias P, o que parece indicar o papel determinante destas adesinas na patogénese urinária.

Tabela 1: Comportamento bioquímico de *E. coli*; Fonte: (FERREIRA, SOUSA 2000, pág.101)

Provas bioquímicas	<i>E. coli</i>
Indol (produção)	+
Vermelho Metilo	+
Acetoína	-
Citrato	-
Sulfureto de Hidrogénio	-
Lisina descarboxilase	+
Ornitina descarboxilase	+
Arginina dihidrolase	-/+
Mobilidade	+
Lactose (fermentação)	+
Teste da β -galactosidase	+
Pigmento amarelo	-

E. coli é também um habitante indígena do tracto intestinal dos mamíferos e por essa razão, a sua presença em águas de consumo é indicadora de poluição fecal. Embora seja um habitante indígena do tracto intestinal, algumas estirpes de *E. coli* podem ocasionar perturbações entéricas, sendo designadas internacionalmente pelos acrónimos EPEC (*E. coli* enteropatogénica), ETEC (*E. coli* enterotoxígenas), EHEC (*E. coli* enterohemorrágica), EIEC (*E. coli* enteroinvasivas) e EAEC (*E. coli* enteroagregativa).

Patogenia e manifestações clínicas

As manifestações clínicas das infecções causadas por *E. coli* dependem do local da infecção.

- ✓ Infecção do tracto urinário – *E. coli* constitui a causa mais comum de infecção das vias urinárias, sendo responsável por cerca de 90% das primeiras infecções do tracto urinário em mulheres jovens.
- ✓ Doenças Diarreicas associadas a *E. coli* – *E. coli* que provoca a diarreia é extremamente comum no mundo inteiro, sendo classificada com base nas características das suas propriedades de virulência. Cada grupo provoca doença por um mecanismo diferente.

As estirpes **EPEC** estão associadas à diarreia em lactentes. A infecção por EPEC resulta em diarreia aquosa, que em geral é autolimitada, mas pode ser crónica. (JAWETZ, 2005, FERREIRA & SOUSA, 2000)

As estirpes **EHEC** produzem uma verotoxina, assim denominada em virtude do seu efeito citotóxico sobre as células, com efeitos análogos aos provocados pela toxina de *Shigella dysenteriae* tipo 1, ocasionando no Homem colites hemorrágicas, diarreias não sanguinolentas, síndrome hemolítico-urémica, anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia.

As estirpes **ETEC** são responsáveis pela chamada diarreia do viajante, enquanto que as estirpes **EIEC** invadem e destroem o epitélio do cólon, ocasionando uma diarreia aguda com sangue e leucócitos nas fezes. Têm um mecanismo de patogenicidade idêntico ao de *Shigella*.

As estirpes **EIEC** causam uma doença muito semelhante à Shigelose, mais comum em crianças de países em desenvolvimento, bem como em indivíduos que viajam para esses países (FERREIRA & SOUSA 2000).

As estirpes **EAEC** provocam diarreia aguda e crónica (mais de 14 dias de duração). Caracterizam-se pelo seu padrão típico de aderência às células humanas. (FERREIRA & SOUSA, 2000)

Anti-Infecciosos Urinários

Os Anti-Infecciosos urinários são substâncias que são segregadas e concentradas na urina em quantidades suficientes para terem um efeito antisséptico na urina e no aparelho urinário (CLAYTON 2002, DAVID e ANDREU 2005, SACHAIS 2007).

Os antibióticos e outros agentes quimioterapêuticos antibacterianos podem combater as infecções, provocando a morte das bactérias, isto é, exercendo uma acção bactericida; mas, o seu efeito pode simplesmente traduzir-se numa inibição da multiplicação bacteriana, sendo então a sua acção apenas bacteriostática. Nesta circunstância, as defesas naturais do organismo, importantes em todos os casos, encarregam-se de remover a população bacteriana remanescente, ao mesmo tempo que o seu número também diminui pelo rápido envelhecimento e autólise de constituintes daquela população (GARRET 1987, ALÓS 2005).

Embora haja quimioterápicos que são caracteristicamente bactericidas e outros essencialmente bacteriostáticos, alguns quimioterápicos podem ser bacteriostáticos ou bactericidas, dependendo de diversos factores (tipo de bactéria, dimensão da população microbiana, concentração atingida pelos quimioterápicos no foco infeccioso, etc).

A maioria dos antibióticos utilizados actualmente é sintetizada por microrganismos. Estes são purificados e modificados quimicamente em laboratório, originando antibióticos semi-sintéticos. A modificação química torna o antibiótico mais eficaz contra microrganismos patogénicos específicos. Os antimicrobianos são classificados de acordo com o tipo de agente patogénico que visam destruir, como por exemplo, as bactérias (antibacterianos), fungos (antifúngicos), ou vírus (antivíricos) (FERREIRA & SOUSA 2000).

Posteriormente, são subdivididos por famílias químicas em grupos terapêuticos, tais como penicilinas, tetraciclina e aminoglicosídeos, entre outros. A selecção de um antimicrobiano deve basear-se na sensibilidade do agente patogénico e na possível toxicidade para o utente (CARS 2001, JAWETZ 2005, SCHOOFF 2005 e SACHAIS 2007).

Efeito Bactericida versus Efeito Bacteriostático

Segundo CLAYTON 2002 e SOUSA 2005, diz-se que um antibiótico é bactericida quando provoca a lise da bactéria. Um antibiótico bacteriostático é aquele que inibe a multiplicação das bactérias, encarregando-se depois as defesas naturais do organismo de remover as bactérias remanescentes.

Há antibióticos bactericidas (penicilinas) e outros tipicamente bacteriostáticos (tetraciclina).

Mecanismos de Acção dos Antimicrobianos

Segundo GARRET e OSSWALD (1987), o mecanismo de acção dos antibióticos nem sempre está suficientemente esclarecido e, frequentemente, determinados antibióticos actuam não apenas em uma, mas em várias fases do ciclo vital das bactérias, por vezes muito díspares entre si e variando conforme a concentração do fármaco. Estes factos tornam difícil, se não impossível, uma boa sistematização deste assunto.

GARRET e OSSWALD (1987) referem que, embora com algumas reservas, pode dizer-se que os mecanismos de acção dos antibacterianos se enquadram num, dos seguintes mecanismos:

- I. Inibição da síntese da parede bacteriana;
- II. Modificação da permeabilidade da membrana citoplasmática;
- III. Inibição de sistemas enzimáticos da membrana citoplasmática;
- IV. Alteração da síntese dos ácidos nucleicos;
- V. Inibição da síntese proteica por acção sobre os ribossomas;
- VI. Inibição de diversas enzimas do metabolismo citoplasmático;

Resistência a Antibióticos

Segundo GUPTA 2001, os mecanismos pelos quais os microrganismos se tornam resistentes aos fármacos são:

- ✚ Produzir enzimas que destroem o fármaco activo;
- ✚ Modificar a sua permeabilidade ao fármaco;
- ✚ Desenvolver um alvo estrutural alterado para o fármaco;
- ✚ Desenvolver uma via metabólica alterada, que omite a reacção inibida pelo fármaco;
- ✚ Elaborar uma enzima alterada que ainda tem uma capacidade de desempenhar a sua função metabólica, mas é bem menos afectada pelo fármaco; Exemplo: nas bactérias resistentes ao trimetoprim, a enzima diidrofolato-redutase é inibida com menos eficácia que nas bactérias susceptíveis a ele.

As bactérias que são inactivadas por um determinado antibiótico designam-se **sensíveis**, aquelas sobre as quais o antibiótico não é eficaz, dizem-se **resistentes**. A resistência pode ser natural (a bactéria foi sempre resistente a esse antibiótico) ou adquirida (a bactéria inicialmente sensível, tornou-se resistente a determinado antibiótico, por ou aquisição de elementos genéticos móveis: mutação, plasmídeos, entre outros) (GUPTA 2001, JAWETZ 2005, DAVID 2005).

De acordo com a infecção, inferimos acerca das bactérias responsáveis e escolhemos o antibiótico mais indicado, o que só em alguns casos deve ser feito. Pede-se o exame bacteriológico, devendo a colheita ser sempre anterior ao início da antibioterapia o que nos vai permitir o conhecimento exacto do(s) microrganismo(s) em causa (ANDREU 2005 e SACHAIS 2007)..

Como isso nem sempre (ou melhor, raramente) é suficiente para a exacta condução da terapêutica antibiótica, devendo ser também pedido o estudo de susceptibilidade aos antibióticos (TSA).

Mesmo após isolamento do(s) microrganismo(s) responsável(is) e conhecimento da sua sensibilidade aos antibióticos, o antibiótico a escolher, de entre aqueles a que a bactéria é sensível “*in vitro*”, faz-se atendendo ao terreno ao qual sobreveio a infecção, ao local infectado e factores, tais como: toxicidade do produto e seus efeitos secundários, via de administração e comodidade posológica, penetração no foco de infecção e preço do antibiótico. A última palavra caberá sempre à resposta clínica (ERB 2007).

Segundo JAWETZ (2005), em geral a replicação activa das bactérias constitui um requisito para a maioria das acções dos antibacterianos. Em consequência, os

microrganismos metabolicamente inactivos (que não se multiplicam) podem ser fenotipicamente resistentes aos fármacos. Todavia, os descendentes são totalmente susceptíveis.

Para um composto químico ser um agente quimioterápico ideal para utilização no tratamento de infecções microbianas, ele deve apresentar as seguintes características:

- ✎ Ser capaz de destruir ou inibir muitas espécies de microrganismos patogénicos, por exemplo antibióticos de largo espectro, que são eficazes contra muitas espécies;
- ✎ Inibir os microrganismos de tal maneira, que se evite o desenvolvimento de formas resistentes de microrganismos produtores de doenças;
- ✎ Não produzir efeitos colaterais indesejáveis no paciente, como reacções alérgicas, lesões nervosas ou irritação dos rins ou do trato gastrointestinal;
- ✎ Não eliminar os microrganismos que normalmente habitam o tracto intestinal ou outras áreas do organismo. Estes microrganismos, denominados flora normal, desempenham um papel importante, impedindo o crescimento de microrganismos patogénicos e não permitindo o estabelecimento de infecção;
- ✎ Se o agente é administrado oralmente, não poderá ser inactivado pela acidez estomacal e deverá ser absorvido no organismo pelo tracto intestinal. Se é administrado por via parenteral, não poderá ser inactivado pelas proteínas presentes na corrente sanguínea;
- ✎ Ser altamente solúvel nos fluidos corporais, caso necessite estar numa solução para ser activo;
- ✎ Ser capaz de alcançar concentrações suficientes nos tecidos ou no sangue de pacientes para matar ou inibir o crescimento e proliferação dos microrganismos que estão a causar a doença (SCHOOFF, DAVID e JAWETZ 2005, SACHAIS 2007)

É improvável que um único agente quimioterápico possa apresentar todas estas qualidades. Portanto, os clínicos podem fazer comparações entre os agentes disponíveis para seleccionar o mais apropriado no tratamento de uma infecção específica (PELCZAR, CHANAL & KRIEG, 1997).

No caso das infecções urinárias sem complicações, cujo agente etiológico suspeito ou comprovado é a *E. coli*, os fármacos de primeira escolha são normalmente a

Ciprofloxacina, ofloxacina e nitrofurantoína. Já a Sulfonamida, SMZ-TMP¹, cefalosporina e a fosfomicina são fármacos alternativos (JAWETZ 2005).

A escolha dum antibiótico depende de vários factores, tais como: o **diagnóstico**, tendo em conta o local de infecção: a idade do paciente, o local onde a infecção foi contraída (hospital vs comunidade): e os factores mecânicos predisponentes; e **testes de sensibilidade**, que pretendem determinar a sensibilidade de antibióticos referentes à estirpe causadora da infecção urinária.

Segundo FERREIRA e SOUSA 2002, os antibióticos podem ser classificados em grupos principais:

β -Lactâmicos

Na família Enterobacteriaceae, o mecanismo de resistência mais importante é a produção de Beta lactamases. As β -lactamases, em relação às PBPs, apresentam diferenças que se traduzem em resultados qualitativos muito diferentes: a β -lactamina inactiva a PBP e a β -lactamase destrói as β -lactaminas e fornece, à bactéria que as produz, uma arma de resistência mortal. Além disso, as propriedades das β -lactamases podem ser significativamente modificadas (CARS 2001, JAWETZ 2005, SOUSA 2005).

Mecanismos de acção dos β -lactâmicos

Os β -lactâmicos acilam as PBPs ficando estes sem actividade fisiológica, param, portanto a síntese do peptidoglicano mas exacerbam a actividade das autolisinas bacterianas, ocasionando a morte e a lise da célula bacteriana. São bactericidas. Os β -lactâmicos impedem portanto a reacção de transpeptidação na formação do peptidoglicano (SOUSA 2001).

Estes antibióticos têm que atravessar a parede celular (PC) bacteriana para alcançar o seu alvo – as PBPs, impedindo a sua função. Daí resulta a lise celular, dado o assincronismo entre a biossíntese do peptidoglicano e a actividade auto-lítica bacteriana (CARS 2001, SCHOOFF 2005).

¹ SMZ-TMP é uma mistura de cinco partes de sulfametoxazol e uma parte de trimetoprim.

Cefalosporinas

As cefalosporinas são quimicamente relacionadas com as penicilinas e têm um mecanismo acção semelhante. As cefalosporinas actuam inibindo a síntese da parede celular da bactéria (SOUSA 2002, JAWETZ 2005). Estão divididas, segundo a sua actividade antimicrobiana:

- Cefalosporinas de 1ª geração - tem uma actividade eficaz contra microrganismos Gram positivos e uma acção moderada contra microrganismos Gram negativos.
- Cefalosporinas de 2ª geração - apresentam uma actividade aumentada contra as bactérias Gram negativas mas são muito menos eficazes do que as de 3ª geração.
- Cefalosporinas de 3ª geração - são geralmente menos activas do que as de 1ª geração contra os cocos Gram positivos, embora sejam muito mais eficazes contra as bactérias produtoras de penicilinase.
- Cefalosporinas de 4ª geração são consideradas “de largo espectro” pela cobertura contra Gram negativos e Gram positivos.

Primeira geração	Segunda geração	Terceira geração	Quarta geração
Cefalotina	Cefamando ¹	Cefotaxima	Cefepima
Cefapirina	Cefuroxima	Ceftizoxima	
Cefazolina	Cefonicida	Ceftriaxona	
Cefalexina ²	Ceforanida	Ceftazidima	
Cefradina	Cefaclor ¹	Cefoperazona	
Cefadroxil	Cefoxitina	Cefixima ¹	
	Cefotetano	Cefpodoxima	
	Cefprozil ¹	proxetil ¹	
	Cefuroxima axetil ¹	Ceftibuten ¹	
	Cefmetazol	Cefdinir ¹	

Tabela 2: Principais grupos de cefalosporinas; Fonte: (JAWETZ, 2005) pág.150

² Agentes orais

Quinolonas

A acção antibacteriana das quinolonas (ciprofloxacina, cinoxacina, enoxacina, ácido nalidíxico e norfloxacina) não está completamente determinada, mas sabe-se que actuam como antibacterianos inibindo as enzimas girase do DNA necessárias à replicação do DNA na bactéria (ANDREU 2005 e ALÓS 2005).

As quinolonas imobilizam as DNA girases e as topoisomerases bacterianas responsáveis pelo super-enrolamento negativo da molécula do DNA. Nestas circunstâncias não ocorre a separação das cadeias de DNA, não havendo transcrição e síntese proteica. São bactericidas. Na *E. coli* o DNA é cerca de 1.000x superior ao tamanho da célula, isto requer a sua compactação no interior da célula, com a participação das DNA girases e topoisomerases. O DNA não é funcional no estado relaxado e só sob a forma compactada (espiralada) é que é possível ocorrer a replicação do DNA, a transcrição e a síntese proteica (SOUSA 2001).

Primeira Geração	Segunda Geração	Terceira Geração
Ácido Nalidíxico	Ciprofloxacina	Clinafloxacina
Cinoxacina	Enofloxacina	Gatifloxacina
Ácido oxolínico	Lomefloxacina	Gemifloxacina
Pefloxacina	Ofloxacina	Levofloxacina
Norfloxacina		Moxifloxacina
		Esparfloxacina

Quadro 1: As Quinolonas; Fonte: (JAWETZ, 2005) pág.155

As primeiras quinolonas não atingiam níveis antibacterianos sistémicos após administração oral e eram úteis apenas como anti-sépticos urinários. Os derivados fluorados (2ª geração) possuem maior actividade antibacteriana e baixa toxicidade e alcançam níveis clinicamente úteis no sangue e nos tecidos (CLAYTON 2002, JAWETZ 2005).

Nitrofurantoína

A nitrofurantoína é um antibiótico que actua interferindo com vários sistemas enzimáticos bacterianos. Este antibiótico não é eficaz contra microrganismos existentes no sangue ou noutros tecidos, excepto no aparelho urinário. É activo contra muitos gram-positivos e Gram-negativos, como a *E. coli*, *Streptococcus faecalis* e espécies de *Proteus*. Não é activo contra *Pseudomonas aeruginosa* ou *Serratia* (CLAYTON 2002, ANDREU 2005 e SACHAIS 2005).

A Nitrofurantoína tem uma acção anti-bacteriana múltipla. As baixas concentrações reduz a síntese de β -galactosidase e galactoquinase, sem afectar a síntese proteica. A altas concentrações inibe enzimas do ciclo de Krebs, síntese de DNA, RNA e síntese proteica (SOUSA 2001).

Aminoglicosídeos

Um exemplo bem conhecido dos antibióticos aminoglicosídeos é a estreptomina. A neomicina também pertence a este. Os antibióticos aminoglicosídeos provocam a destruição bacteriana, principalmente através da inibição da síntese proteica, já que outros mecanismos de acção não estão ainda completamente definidos (JAWETZ 2005).

Os aminoglicosídeos são utilizados principalmente em infecções causadas por microrganismos Gram negativos do aparelho urinário.

Associam-se ao seu alvo na subunidade 30S ribossomal, provocando uma leitura errada da mensagem codificada no mRNA. A proteína errada incorpora-se na membrana celular (MC) afectando a sua permeabilidade.

Ocorre portanto o efluxo de moléculas e iões vitais para a bactéria. Tratam-se portanto, de antibióticos bactericidas (CARS 2001, SOUSA 2001, DAVID 2005).

Macrólidos

Os antibióticos macrólidos actuam inibindo a síntese proteica nas bactérias susceptíveis. São bacteriostáticos e bactericidas, dependendo do microrganismo e da concentração de medicamento presente. A eritromicina é eficaz contra microrganismos Gram positivos e cocos Gram negativos. A azitromicina é menos activa contra Gram positivos do que a eritromicina, mas tem uma maior actividade contra os Gram negativos que são resistentes à eritromicina (DAVID 2005, SACHAIS 2007).

São antibióticos do grupo MLS (macrólidos-lincosamidas-streptograminas). Atravessam contudo a MC bacteriana por difusão passiva. Têm uma afinidade para a

sub-unidade 50S ribossomal. Bloqueiam o local P, impedindo a translocação. São bacteriostáticos (SOUSA 2001).

Resistência em *E. coli* uropatogénica

Todas as propriedades da célula microbiana, incluindo a resistência aos antimicrobianos, estão determinadas no genoma da bactéria. Na maior parte das células encontram-se os 3 tipos de elementos genéticos: o cromossoma, os plasmídeos e os bacteriófagos lisogénicos (NAVEEN 2005, HORCAJADA 2005).

A resistência pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é a resistência natural que algumas espécies bacterianas possuem. Por outro lado, a resistência adquirida produz-se por alguns dos mecanismos que acontecem na resistência natural e se adquirem por: mutação e selecção, transferência de fragmentos de DNA que codificam a resistência entre estirpes e espécies diferentes (SAHM 2001).

Segundo COLLEE 1993, *E. coli* é semelhante a muitas outras enterobactérias na sua sensibilidade aos antibióticos e as diferentes estirpes diferem marcadamente na sua sensibilidade aos fármacos utilizados no tratamento das infecções por coliformes.

A primeira penicilina clinicamente eficaz contra *E. coli* foi a ampicilina (concentração inibitória de 8mg/l), mas pouco depois da sua introdução na terapêutica, verificou-se a ocorrência de resistência a este composto, por hidrólise do mesmo por acção de β -lactamases. Actualmente, este facto constitui um grave problema clínico e 30% ou mais das estirpes de *E. coli* isoladas são resistentes a este fármaco (SOUSA 2001).

Muitas estirpes de *E. coli* são sensíveis às penicilinas de largo espectro, nomeadamente à carbanecilina (4mg/litro), ticarcilina (4mg/litro), mezlocilina (2mg/litro), piperacilina (2mg/litro), e azlocilina (8mg/litro), mas todos estes antibióticos são destruídos por várias das β -lactamases de importância clínica.

A associação de penicilinas a inibidores das β -lactamases permite alargar o espectro de actividade dos antimicrobianos, e as β -lactamases produzidas por muitas estirpes deixarão, deste modo, de inactivar os antimicrobianos em causa (CLAYTON 2002). A primeira combinação preparada para uso clínico é a Augmentina (associação de amoxicilina e ácido clavulânico).

Embora *E. coli* fosse sensível às primeiras cefalosporinas, os fármacos mais recentes deste grupo têm, não só muito maior actividade intrínseca mas são, além disso, muito mais resistentes à hidrólise pelas β -lactamases. A concentração mínima inibitória

dos fármacos de segunda geração é da ordem de 0,5-2 mg/litro e as da terceira geração é de 0,05-1mg/litro.

Os aminoglicosídeos são fármacos de escolha contra as infecções graves por *E. coli*. A concentração mínima da gentamicina, tobramicina e netilmicina é de 0,1-1mg/litro e da amicacina de 1-4mg/litro (SOUSA 2001).

Objectivos do Estudo

A escolha desta pesquisa deve-se ao facto de “*E. coli* ser o agente patogénico mais frequentemente causador de infecção urinária”, como pode comprovar-se nos estudos efectuados de SAHM 2002, RUIZ 2002, NAVEEN 2005. MÁZON 2000 e SALAS 2006: que “devido ao crescente número de resistências a antibióticos, é importante atender aos agentes antimicrobianos mais aconselhados a usar”.

Um estudo estatístico da sensibilidade aos antimicrobianos, utilizando estirpes de *E. coli* provenientes de vários grupos populacionais, estabelece uma estimativa do perfil de sensibilidade da bactéria aos antibióticos e poderá orientar as opções clínicas de terapêutica empírica inicial, antes do resultado do T.S.A. ser conhecido.

Assim, um dos grandes objectivos deste trabalho visa a confirmação e reconhecimento de *E. coli* como estirpe mais frequentemente implicada nas infecções urinárias (IU), estabelecendo em simultâneo um padrão de sensibilidade da mesma aos antibióticos, contribuindo, deste modo, para o uso mais racional de antibióticos.

Este e outros estudos análogos têm como finalidade consciencializar o aumento das resistências microbianas, contribuindo para o decréscimo de fracassos terapêuticos e efeitos colaterais indesejáveis, permitindo assim a redução de gastos excessivos e desnecessários, quer individuais, quer institucionais.

Metodologia

No laboratório de microbiologia do Hospital de Aveiro são realizados exames que contribuem para o diagnóstico, tratamento, monitorização ou prevenção de doenças humanas, bem como qualquer alteração do estado de equilíbrio fisiológico.

O recurso à microbiologia é muito importante no diagnóstico clínico, pois através dela é possível detectar qual o microrganismo causador da infecção e qual a sua susceptibilidade aos antimicrobianos. Mas, para que se possam ter resultados fiáveis, é necessário que as fases pré-analítica, analítica e pós –analítica sejam processadas correctamente.

Os produtos para análise provêm de diversos locais: Medicinas, Banco de Urgências, Pediatria, entre outros, podendo também ser colhidos na própria sala de colheitas do laboratório. Já identificados, os produtos passam pela triagem sendo depois encaminhados para cada secção de acordo com o seu pedido.

A pesquisa dos agentes infecciosos faz-se a partir de produtos biológicos colhidos do indivíduo infectado. A urina é um dos produtos que entra em maior quantidade na microbiologia, seguindo-se de outros, tais como: fezes, sangue (hemoculturas), exsudados (nasais/faríngeos, vaginais) excreções (expectorações), pús, líquidos (pleurais, sinoviais, ascíticos), biópsias, entre outros.

Colheita de Produtos Biológicos (Urina Asséptica)

Deveremos ter em conta algumas considerações gerais, tais como, nunca processar pontas de algália, nunca colher urina de arrastadeira, urinol ou saco de algália.

Existem vários tipos de métodos de colheita tais como:

- Jacto Médio
- Punção de cateter urinário;
- Punção Supra-púbica;
- Saco colector em crianças;
- Drenagem de nefrostomia/ureterostomia;

a) Colheita do jacto médio - Mulher

- Antes de iniciar a colheita efectuar a lavagem higiénica das mãos;
- Com compressas embebidas em água e sabão, proceder à lavagem dos órgãos genitais da frente para trás, com uma compressa de cada vez, repetir a operação três vezes; Nunca usar antissépticos.
- Usando o mesmo processo, lavar só com água esterilizada e secar;

- Iniciar a micção, desprezando o primeiro jacto de urina e depois sem interromper o jacto urinário, deve colher para um contentor estéril cerca de 10 ml de urina.

b) Colheita do jacto médio – Homem

- Antes de iniciar a colheita efectuar a lavagem higiénica das mãos;
- Afastar o prepúcio e manter essa posição durante toda a colheita;
- Limpar a glândula com compressas embebidas em água e sabão;
- Usando o mesmo processo, lavar agora só com água esterilizada e secar;
- Iniciar a micção, desprezando o primeiro jacto e colher 10 ml de urina para recipiente estéril.

c) Punção de cateter urinário - Doente algaliado

Não está indicado fazer “urina assépticas” por rotina em doentes algaliados; A urina nunca deve ser colhida do saco colector ou da junção deste com a algália e nunca devem ser enviadas para cultura as pontas de algália, pois estão invariavelmente contaminadas por bactérias da uretra.

- Clampar a algália durante 10-15 minutos, acima da derivação, na zona de borracha
- Desinfectar com solução álcool-iodada a zona do tubo da algália a puncionar (alguns sistemas têm local específico para a punção);
- Fazer a punção com agulha e seringa estéreis, em ângulo agudo, em relação ao eixo longitudinal do cateter e aspirar a urina (5 a 20 ml);
- Transferir a urina para um contentor estéril.

d) Punção supra-púbica

- O doente deve ter a bexiga cheia;
- Desinfectar a pele da região supra-púbica com a solução anti-séptica;
- Com agulha e seringa esterilizada, puncionar a pele e bexiga ao nível do 1/3 inferior da linha que une o umbigo à sínfise púbica;
- Aspirar a urina e colocá-la em recipiente esterilizado ou enviar na própria seringa após remoção da agulha.

e) Saco colector (utilizado na criança sem controlo dos esfíncteres)

- Lavar com água e sabão a área genital, limpar com água esterilizada e secar com compressa esterilizada.
- Aplicar um saco autocolante estéril e vigiar até que se produza a micção.
- Se, ao fim de 30 minutos não tiver urinado, retirar o saco e repetir todo o procedimento anterior.
- Transferir a urina para um recipiente esterilizado.

Realizou-se um estudo com 135 amostras positivas, isoladas a partir de todas as amostras de urina enviadas ao laboratório de Microbiologia do Hospital de Aveiro durante os meses de Janeiro e Fevereiro do ano 2007, procedentes do internamento e ambulatório do referido hospital e sua zona de influência.

As amostras foram avaliadas pela comparação entre as características citológicas e cultura com ansa calibrada (10µl), em meio CLED para contagem das colónias (incubada entre 35°C/37°C durante 18/24h), e identificação e estudo de susceptibilidade aos antimicrobianos.

A identificação e a determinação da sensibilidade foram efectuadas no sistema VITEK® Biomérieux (Figura 1), equipamento automatizado destinado à identificação de bactérias, leveduras, e a testes de sensibilidade a bactérias não fastidiosas.



Figura 3: VITEK® - Aparelho automatizado para testes de identificação e susceptibilidade; Fonte: http://www.biomerieux.pt/servlet/srt/bio/portugal/dynPage?doc=PT_G_CLN_PRD_G_PRD_4

Os equipamentos da gama VITEK-bioMÉRIEUX são sistemas completamente automatizados que permitem a identificação e a determinação da sensibilidade aos antibióticos, através da inoculação e incubação de cartas de plástico, criadas para o efeito.

As cartas de antibiograma possuem micro-poços com concentrações padronizadas de vários antibióticos, possibilitando também, a determinação da concentração mínima inibitória (CMI) pelo método da microdiluição. Este método de determinação das CMIs é comparável ao método padrão, a macrodiluição em tubo. Os resultados das CMIs são traduzidos em duas categorias clínicas: Sensível ou Resistente (sendo os Intermédios incluídos na categoria dos resistentes).

A carta de identificação de Gram-negativos (GNI) destina-se a ser utilizada com o sistema VITEK® para a identificação automática de microrganismos da família Enterobacteriaceae. Além disso, a carta tem capacidade para identificar um grupo seleccionado de bactérias Gram-negativas não fermentadoras da glucose e membros da família Vibrionaceae. Estas cartas GNI possuem 30 poços, dos quais 29 contêm caldos bioquímicos e 1 contém um caldo de controlo de crescimento. A carta GNI realiza uma série de testes bioquímicos convencionais e não convencionais. A identificação necessita, normalmente, de 4 a 13h de incubação no Leitor/Incubador VITEK®.

Quanto à identificação das estirpes, foram utilizadas outros tipos de “cartas” para além das cartas de identificação de Gram negativos (GNI), como por exemplo cartas de identificação de Gram-positivos (GPI) e cartas bioquímicas para leveduras (YBC), sendo a mais utilizada a GNI.

A utilização e escolha de um tipo de “carta” é feita de acordo com o resultado de Gram executado.

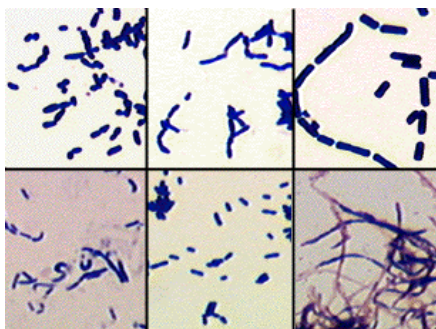


Figura 4: Gram Positivos

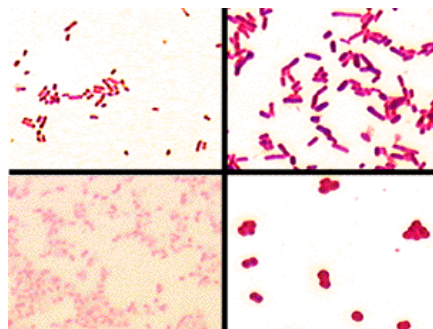


Figura 5: Gram Negativos

Antes de colocar a “carta” no dispositivo de enchimento, deve realizar-se sempre uma coloração de Gram (Fig.4 e 5), procedendo-se de seguida à padronização do inóculo.

Se o teste de oxidase for positivo, deve escurecer-se o entalhe circular existente na mesma. A ausência de uma marca no entalhe circular indica uma reacção negativa para a oxidase. Logo, a opção de escolha de cartas GNI/ GNI+, depende da reacção de oxidase.

A carta de sensibilidade de Gram-negativo (GNS) VITEK® foi concebida para a realização de testes de sensibilidade antimicrobiana de bacilos Gram-negativos, de crescimento rápido, aeróbios e/ou anaeróbios facultativos. A carta destina-se a ser utilizada como um suporte laboratorial para determinar a sensibilidade in vitro a agentes antimicrobianos.

O sistema VITEK® determina a altura na qual um poço demonstra crescimento (positivo), com base na atenuação da luz, que é medida pelo leitor óptico. O sistema avalia cada poço de forma independente determina, de hora a hora, o grau de crescimento de cada um e utiliza os dados dos poços e a identificação dos microrganismos para determinar os valores CMI relativamente ao agente antimicrobiano.

O critério de positividade foi a contagem de unidades formadoras de colónias (UFC/ml), associada à citologia, podendo ser considerada bacteriúria significativa quando superior a 10^4 ou 10^5 UFC/ml (ver quadro 2 - anexos). Após termos identificado o microrganismo causador da infecção urinária, procedemos ao Teste de Sensibilidade aos Antibióticos (TSA).

Diagnóstico Laboratorial das ITU

Exames para diagnóstico

Segundo o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2004), “A urina é habitualmente um líquido biológico estéril, mas a sua passagem através da uretra durante a micção arrasta os microrganismos que a colonizam, podendo induzir em erros na interpretação da urocultura”.

Para o diagnóstico da infecção do aparelho urinário são válidas as seguintes amostras de urina: Jacto médio, punção de cateter urinário, punção supra-púbica, saco colector em crianças e drenagem de nefrostomia/ureterostomia.

Urocultura

O meio de cultura a utilizar é o agar CLED que permite o cultivo de microrganismos aeróbios ou microaerófilos. O CLED (cysteine lactose electrolyte deficient agar) é apenas diferencial, permitindo uma boa diferenciação entre as colónias. É um meio específico para as urinas. Contém cisteína e é deficiente em electrólitos. Permite saber se a bactéria é fermentadora da lactose. Lactose positiva apresentam colónias de cor amarela, lactose negativas apresentam colónias de cor incolor “azulada”.

A composição do meio permite limitar a invasão por *Proteus* no mesmo.

Devido a uma ampla disponibilidade de substâncias nutritivas e por não possuir substâncias inibidoras, é considerado um meio de cultura universal para uroculturas.

Execução de uma sementeira de urina

Deve-se homogeneizar a urina, retirar cerca de 10 µl de urina não centrifugada com uma ansa calibrada (esta deve estar na vertical) e semear em meio apropriado. Depois coloca-se na estufa aproximadamente 37°C a 18 a 24 horas, a fim de haver crescimento microbiológico.

Noutros casos pode ainda semear-se me forma de roseta, a fim de se obter colónias no esgotamento final, feito na placa.

Transporte da Urina

Após a colheita, a urina deve ser transportada ao laboratório o mais rapidamente possível, uma vez que deverá ser semeada até uma HORA após a colheita. Se não for possível, deverá ser refrigerada a 4° C e processada até às 24 horas após a colheita.

Após a incubação, deve-se fazer a leitura do número de colónias:

Resultados (nº colónias)	UFC/ml de urina	Avaliação/Apreciação
< 10	$< 10^3$	Bacteriúria Não Significativa
Entre 10 e 100	$\geq 10^4$ e $\leq 10^5$	Duvidosa
> 100	$> 10^5$	Bacteriúria Significativa

Tabela 3: Avaliação do crescimento bacteriano em CLED

Resultados

Das 612 amostras de urinas microbiologicamente estudadas, obtiveram-se 477 uroculturas negativas e/ou contaminadas ($\pm 78\%$) e 135 uroculturas positivas (22%).

Tabela 4 : Resultados das Uroculturas

Janeiro e Fevereiro de 2007	
Uroculturas Positivas	135
Uroculturas Negativas e/ou Contaminadas	477
Total	612

O gráfico 1 expressa a percentagem da distribuição das uroculturas estudadas.

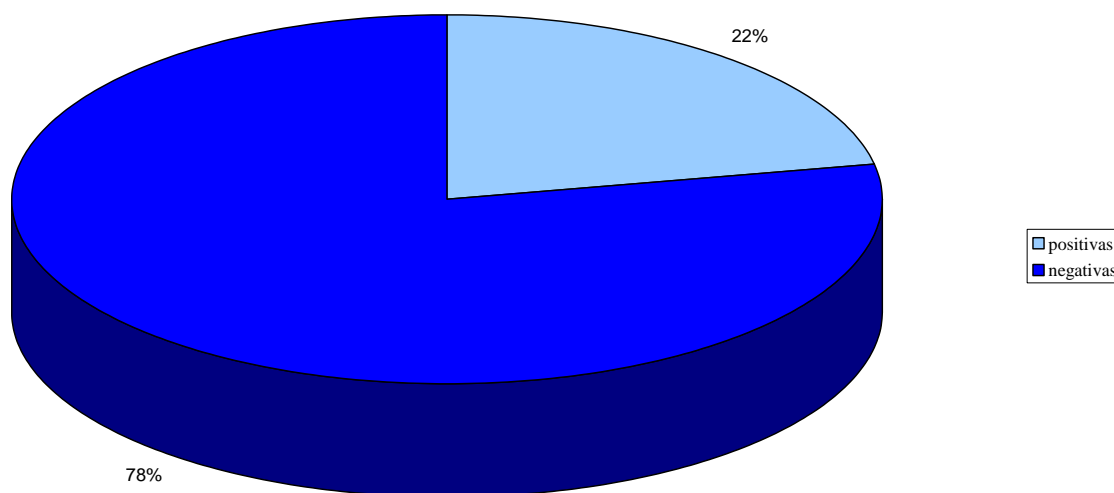


Gráfico 1 : Uroculturas positivas e negativas

Das 135 amostras de urina que tiveram crescimento bacteriano, *E. coli* e *Proteus mirabilis* foram as estirpes que mais infecções urinárias causaram, a sua percentagem e dos restantes microrganismos está expressa na tabela 4.

Tabela 5 : Relação de bactérias isoladas nas uroculturas positivas

Uroculturas Positivas	
Estirpes	Percentagem (%)
<i>Escherichia coli</i>	53,33
<i>Proteus mirabilis</i>	12,59
<i>Enterococcus sp.</i>	10,37
<i>Cândida sp.</i>	6,67
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,44
<i>Pseudomonas sp.</i>	2,96
<i>Staphylococcus coag -</i>	2,96
<i>Staphylococcus coag +</i>	1,48
<i>Stenotrophomonas maltophília</i>	1,48
<i>Enterobacter cloaceae</i>	1,48
<i>Morganella morganii</i>	0,74
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,74
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	0,74
Total	100

Relativamente aos agentes mais frequentes, conforme expressa o gráfico 2, *E. coli* foi isolada em 72 amostras de urinas correspondendo a 53%, seguido de *Proteus mirabilis* com 12,59%, enquanto os agentes bacterianos menos frequentes foram *M. morganii*, *S. agalactiae* e *F. oryzihabitans* (0,74%).

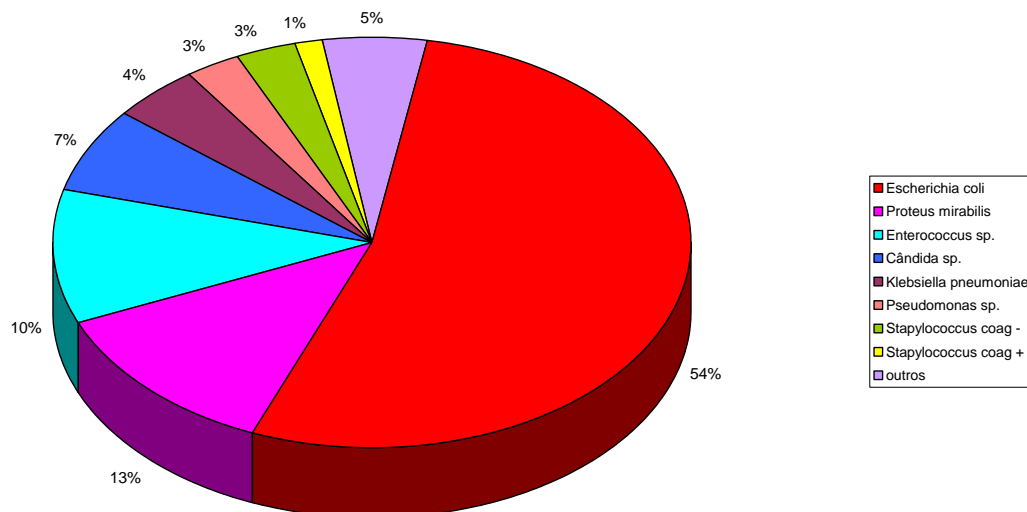


Gráfico 2 : Uroculturas Positivas

O sexo feminino foi o mais afectado pelas infecções do tracto urinário ocupando 99 dos 135 casos e correspondendo a 73%. Os restantes 36 casos das 135 amostras de urinas positivas corresponde ao sexo masculino que equivale a 26% das infecções do tracto urinário.

Tabela 6 : Distribuição das 135 Uroculturas Positivas segundo o sexo

Sexo	Número de Casos	Percentagem (%)
Feminino	99	73,3
Masculino	36	26,6
Total	135	100

Quando aos grupos etários, verifica-se que *E. coli* continua a ser o microrganismo mais frequentemente isolado em todos eles, seguido do *Proteus mirabilis*.

Tabela 7 : Distribuição das Estirpes segundo a Faixa Etária

Positivos	Faixa Etária						Total
	Bebé	Criança	Adolesc.	Jovem	Adulto	Idoso	
<i>E. coli</i>	20	19	1	3	5	24	72
<i>Proteus mirabilis</i>	7	4	0	0	3	3	17
<i>Candida</i>	0	0	0	0	1	8	9
<i>Pseudomonas</i>	0	0	0	1	0	3	4
<i>Enterococcus</i>	1	5	0	1	1	6	14
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	0	0	1	0	2
<i>Staphylococcus coag (-)</i>	0	0	0	0	2	2	4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0	1	1	0	0	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	3	1	2	6
<i>Morganella morganii</i>	0	0	0	0	0	1	1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	0	1	0	0	1
<i>Flavimonas oryzae</i>	0	0	0	1	0	0	1
<i>Staphylococcus coag (+)</i>	0	1	0	0	1	0	2
Total	29	29	2	11	15	49	135

Relativamente à frequência de ITU por grupos etários, verificou-se ser no grupo dos idosos o maior número de ocorrências, 24 casos das 72 amostras de urina (33%), seguindo-se os bebés com 28% e 26% nas crianças.

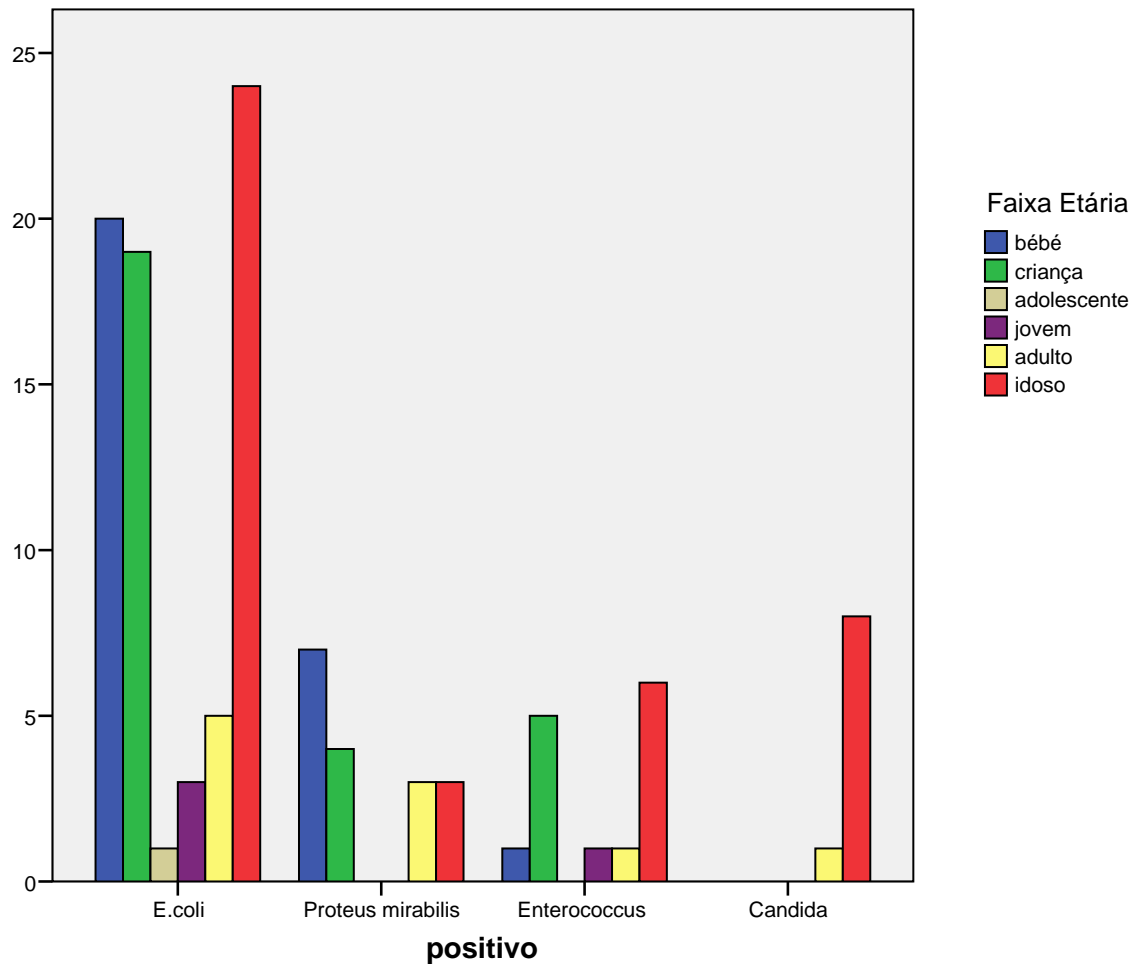
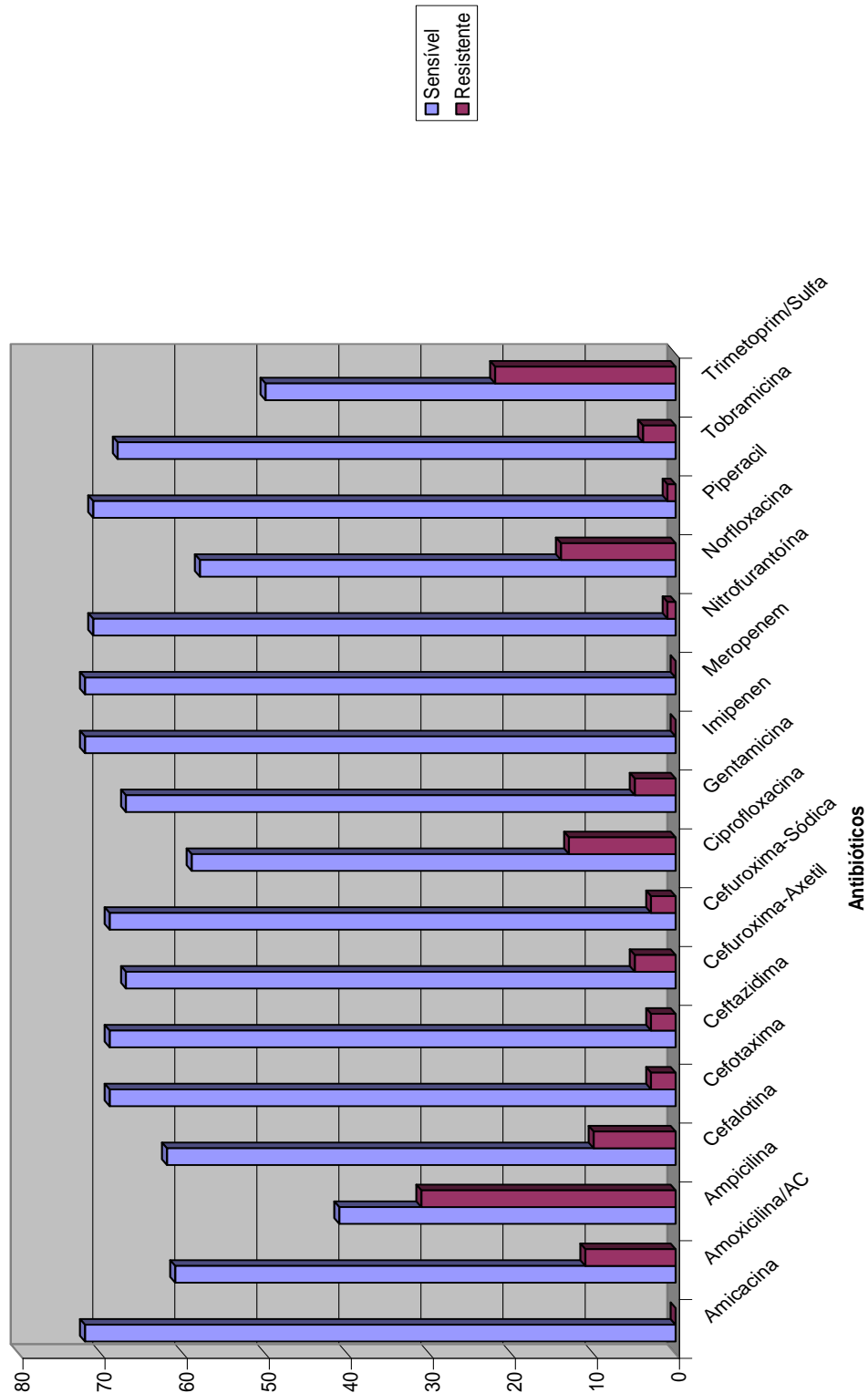


Gráfico 3 : As quatro estirpes mais frequentes neste estudo, tendo em conta a faixa etária dos utentes

Quanto à sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos testados, constatou-se que *E. coli* foi mais sensível à gentamicina e nitrofurantoína. Mostrando-se resistente à ampicilina e trimetoprim.

Gráfico 4: Teste de Sensibilidade aos Antibióticos – *E. coli*



Discussão dos resultados

A infecção urinária é a segunda infecção bacteriana mais comum nas crianças, variando a sua incidência de acordo com a idade e sexo (KOK & ZUCCOLOTTO, 2003), (GARCIA & al, 2006).

Tal como foi referido por MÁZON 2000, BLATT 2005 e MORAIS 2007, também neste estudo sobressai um elevado número de uroculturas negativas e/ou contaminadas, visto que de 612 amostras de urina, apenas 22% (135) são positivas e aproximadamente 78% (477) correspondem a uroculturas negativas e/ou contaminadas.

Estes resultados poderão ser consequência de: urinas colhidas após início de tratamento ou na sua finalização, ausência de ITU, ou ainda no caso das contaminações, devido à falta de cumprimento das regras de assepsia durante a colheita e o transporte.

Relativamente à distribuição das ITU em função do sexo, tal como refere a literatura, a maioria (> 60%) incidiu no sexo feminino, devendo-se esta distribuição às diferenças anatómicas entre ambos: a uretra mais curta na mulher e a proximidade do ânus favorecem a ascensão das bactérias do seu habitat normal, tracto gastrointestinal, para o tracto urinário.

Quanto à etiologia das ITU, o estudo revelou que o agente etiológico mais frequentemente isolado foi *E. coli* (53,3%), resultados bastante concordantes com os encontrados em 2008 no Hospital Distrital de Águeda com 54% de *E. coli*.

Nos outros estudos, SANTOS 2006 e SILVA 2007, obtiveram-se isolamentos de *E. coli* acima dos 60%.

Também em 2006, em doentes da zona da influência do Hospital Universitário de Coimbra, o mesmo uropatogénico foi responsável em 44% destas infecções, sendo um valor um pouco inferior ao encontrado em estudos anteriores.

Ao analisar a frequência destas infecções por grupo etário (tabela 6), verificou-se que é nos idosos que se encontra a maior prevalência, com 33% dos casos. Em relação aos restantes, constatou-se que o número de ocorrências de infecção é um pouco inferior no que diz respeito aos bebés, correspondendo a 28%, diminuindo depois nos restantes grupos etários (crianças 26%, jovem/adulto 13%).

Existem assim duas faixas etárias (crianças e idosos) mais propícias a ITU. Normalmente em bebés e crianças até aos 3 anos (período em que estes não controlam os esfíncteres), podem dar resultados falsos-positivos, por provável contaminação com a flora do períneo.

“O diagnóstico e tratamento precoce da infecção urinária são imprescindíveis, uma vez que dela podem resultar lesões renais que poderão conduzir a insuficiência

renal e hipertensão arterial. A terapêutica empírica destas patologias baseia-se no conhecimento do agente etiológico e respectivo perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos que, para ser eficaz, necessita de actualização, já que é sabido que a etiologia e capacidade evolutiva dos agentes etiológicos perante os antimicrobianos é variável com o tempo, região geográfica e unidade de saúde” (SANTOS 2006).

Assim sendo, os testes de sensibilidade a antibióticos, comprovaram que *E. coli* é bastante sensível quando testada à gentamicina e nitrofurantoína, e moderadamente sensível quando testada à cefalotina, demonstrando que estes quimioterápicos são eficazes em mais de 80% das infecções, valor percentual mínimo recomendado para serem utilizados em terapêutica empírica.

Um outro estudo, SANTOS 2005, efectuado no Centro Hospitalar de Cascais, apresenta resultados iguais ao meu quando se refere à sensibilidade de *E. coli* à nitrofurantoína (96,5%).

Pelo contrário, o trimetoprim e ampicilina são fármacos aos quais *E. coli* se mostrou resistente, aproximadamente entre 20 a 30% dos casos, sendo, consequentemente, antimicrobianos inadequados na prescrição que desconhece os resultados laboratoriais de sensibilidade.

De notar, contudo, que no Hospital Central do Funchal, SANTOS 2006, constatou que o trimetoprim e amoxicilina/Ac são fármacos aos quais *E. coli* mostrou uma certa resistência e a ampicilina foi o antimicrobiano ao qual *E. coli* se mostrou menos sensível (36%), estando estes resultados de acordo com o de um estudo de três anos realizado nos Hospitais da Universidade de Coimbra (MORAIS 2007). Pois, neste último estudo a sensibilidade detectada mais baixa foi à ampicilina (44%).

Quando comparamos resultados obtidos em 2007 no Hospital de Aveiro com os recolhidos em 2004 a 2006 do Hospital do Funchal e os de 2002 a 2004 no HUC, constata-se que são muito semelhantes, ou seja, não há praticamente alteração de sensibilidade ou há uma evolução, mas muito pequena. A mais notória, ainda que também pequena, verifica-se na amoxicilina/Ac que revela quase 10% de aumento de 2004 para 2007.

Eventualmente esta tendência poderá dever-se à diminuição de prescrição devido à ineficácia de inibição sobre elevado número de estirpes de *E. coli*. No entanto, num estudo já referido e realizado no Hospital Pediátrico de Coimbra, o mesmo fármaco foi considerado um dos mais adequados para a mesma terapêutica (RODRIGUES 2006).

Conclusão

Face aos resultados, podemos concluir que o maior número de infecções, que são causadas principalmente por *E. coli*, acontece no grupo dos lactentes, crianças e idosos. Podemos ainda concluir que, o tratamento destas patologias, como de qualquer outra, deve basear-se sempre que possível nos resultados laboratoriais, dado o comportamento heterogéneo dos agentes etiológicos aos antimicrobianos testados.

A situação ideal para prevenção das infecções do tracto urinário seria o controlo rigoroso de todas as etapas desde o início até ao final do processamento das urinas. Inicialmente aquando a sua colheita, para que esta seja efectuada correctamente, a urina deve ser colhida segundo as regras de assepsia e higiene, em material estéril, antes de qualquer início de terapêutica, deve ser suficiente e transportada de maneira a manter a viabilidade do microrganismo fora do hospedeiro.

Após chegada ao laboratório, inicia-se o exame cultural. Apesar da urocultura ser um método um tanto moroso, na medida em que o crescimento bacteriano necessita de 24h de evolução e a identificação da bactéria e respectivo antibiograma entre 18 a 24h, a situação em que o utente apresenta sintomas relevantes de infecção do tracto urinário, “obriga” à administração rápida de um fármaco que impeça a proliferação do crescimento bacteriano. Ora esta circunstância dá origem a que frequentemente seja administrado um antibiótico ao qual a bactéria em questão é resistente (por não ter sido testado previamente, devido à necessidade de uma actuação célere), tornando-se deste modo ainda mais resistente. Assim os fármacos mais adequados na terapêutica empírica são a Gentamicina, e Nitrofurantoína.

Numa perspectiva futura e dado que as ITU são uma importante causa de morbilidade aguda que podem originar problemas a longo prazo, torna-se necessário diagnosticá-la e conhecer o seu agente etiológico e respectiva susceptibilidade aos antimicrobianos, pelo que esperamos que este e outros estudos contribuam para uma selecção da terapêutica mais dirigida, mais eficaz e consequentemente para um tratamento mais rápido e uma redução da emergência de novas estirpes resistentes.

Uma das grandes mais valias deste trabalho é também o contributo que este representa, para a comunidade, desde o incentivo para a prevenção, higiene e adopção de procedimentos eficazes.

Bibliografia

ALONSO, B.; BERNARDÁ, M. – “*Infección Urinaria en niños: agentes patógenos y sensibilidad antibiótica*” Arch Pediatr Urug: 2001; 72 (4): 268-273.

ALÓS J.I., SERRANO M.G., et al “*Antibiotic resistance of Escherichia coli from community-acquired urinary tract infections in relation to demographic and clinical data.*” ClinMicrobiol Infect. 2005;11: 199-203.

ALPER, Brian; CURRY, Sarah – *Urinary Tract Infection in Children*. Vol.72, No.12. American family Physician: Columbia, December 15, 2005.[Internet] [cited 2008 July]; pp.2483-2488. Available from: www.aafp.org/afp

ANDREU A., ALÓS J.I., GOBERNARDO M., et al, Grupo Cooperativo Español para el Estudio de la Sensibilidad Antimicrobiana de los Patógenos Urinarios. “*Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad.*” Estudio nacional multicéntrico. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005; pp.23:4-9.

ANGLADA, Rafael Rotger – *Microbiología Sanitaria y Clínica*. Editorial Sintesis: Madrid, 1997, p.751;

BLATT, Jucelene; MIRANDA, Maria do Carmo – “*Perfil dos microorganismos causadores de infecções do tracto urinário em pacientes internados*” Rev. Panam Infectol Brasil 2005; 7(4):10-14

CARS O., MOLSTAD S. et al “*Variation in antibiotic use in the European Union*” The Lancet. 2001. 9; 357(9271): 1851-3.

CHANAL C., BONNET R., et al “*Prevalence of beta-lactamases among 1,072 clinical strains of Proteus mirabilis: a 2 year survey in a French Hospital*” Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2000. 44:1930-1935.

CLAYTON, B. D., & STOCK, Y. N. (2002). "*Fundamentos de Farmacologia*". Portugal: Lusociência.

COLGAN, Richard; NICOLLE, Lindsay et al – *Asymptomatic Bacteriuria in Adults*. American Academy Family Physicians, 2006; [Internet]. [cited 2008 January 8]; 74:985-990. Available from: <http://www.aafp.org/aafp/20060915/985.html>

COLLEE, J.G. et al – *Microbiologia Médica*, 6ªEd. Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 1993, pág.1336.

CZAJA, C.A. and T.M. HOOTON "Update on acute uncomplicated urinary tract infection in women". Postgraduate Medicine. 2006 119(1):39-45.

DAVID R. D., DEBLIEUX P., PRESS R. et al 2005/7 "*Rational antibiotic treatment of outpatient genitourinary infections in a changing environment*" The American journal of Medicine. 118 (7A): 7S-13S.

ERB, A.; STURMER, T. et al – *Prevalence of antibiotic resistance in E.coli: overview of geographical, temporal and methodological variations*. Springer: Germany 2007.

FERREIRA, Wanda; SOUSA, João – "*Microbiologia*" Volume 1. Lidel: Lisboa, Março 2002, pp.207-220 e pp.239-268.

FERREIRA, Wanda, SOUSA, João – "*Microbiologia*" Volume 2. Lidel: Lisboa, Maio 2000, pp. 99-102.

FONSECA, Ana; SEBASTIÃO, Clotilde et al – *Orientações para a elaboração de um Manual de Boas Práticas em Bacteriologia*. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge; Programa Nacional de Controlo de Infecção; 2004, pp.40-44 e 138.

FOX, Alvin - *Aspectos Generales De la Patogénisis Bacteriana* 2006 México [Internet] [cited 2008 september 20] Available from: <http://pathmicro.med.sc.edu/Spanish/chapter10.htm>.

GARCIA, G., & al, e. (Setembro de 2006). *Infecciones del tracto urinario*. Principio de Urgencia, Emergencias y Cuidados Criticos [Internet] [cited 2008 june 17] Available from: <http://tratado.uninet.edu/c0703i.html>

GARRETT, J.; OSSWALD, W. – “XIV. Quimioterapia anti-infecciosa”, *Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas*, Vol. II (2), Porto Editora: Porto, 1987, pp 936-1168

GUPTA, K.; HOOTON, T.M. “*Increasing Antimicrobial Resistance and management of uncomplicated community acquired urinary tract infections*” 2001 *Annals of internal Medicine* 135(1): 41-50.

HEILBERG, Ita; SCHOR, Nestor – “*Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do tracto urinário*” Volume 49, Nº1. Revista da Associação Médica Brasileira: São Paulo, Janeiro/Março 2003.

HOOTON, T. “*Phatogenesis of urinary tract infections: an update*” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, 46 (suppl.1) pp.1-7.

HORCAJADA, Juan Pablo; FARINAS, Maria del Carmen – “*Implicaciones de las resistencias bacterianas en las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad*”. *Enf Inf Microb Clinic*. 2005 Madrid; pp. 9-16, 23:1-3. [Internet] [cited 2008 January] Available from: www.bago.com/Bolivia/html/doc_pdf/guiaInfeccionesUrinarias.pdf.

JAWETZ, M. E. (2005). *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: 22ª Edição Mc Graw Hill, pp.121-143.

KONEMAN E.W. et al “*Diagnóstico Microbiológico – Texto y Atlas Color*” 5ª Edição Rio de janeiro MEDSI Editora Médica e Científica; 2001.

KOK, V., & ZUCCOLOTTO, M. “*Infecção do Tracto Urinário: Em busca de evidências*” *Jornal Pediatrico*, 2003, pp. 97-106.

KRIGER, J. (2002). Departamento de Urologia de la Universidad de Washington . *Revista Chilena de Urologia* , pp. 2351-8.

LEONÈS, S., & al “*Etiologia y resistencias bacterianas de las infecciones urinarias en un centro de salud rural*” 2002, Medicina de familia , pp. 104-107.

MÁZON, A., & SANCHIZ, J. (2000). “*Etiologia y resistencia bacteriana de las infecciones urinarias extrahospitalarias*” Anales del Sistema Sanitario de Navarra - Ambulatorio General Colchaba .

MÁZON, A.; GIL, A. et al – “*Aetiology and bacterial resistance in urinary infections of outpatients*” [Internet]. [cited 2008 July 14]; Available from: WWW.URL: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol23/n3/orig1a.html>

MCTAGGART, Steven – *Childhood Urinary Conditions*, Vol.34, No.11. Australian Family Physician: November 2005, pp. 937-941.

MORAIS, M. J., RIBEIRO, M. G., & BOAVENTURA, M. L. (2007). “*Evolução da etiologia e sensibilidade antimicrobiana em infecções urinárias ao longo de três anos*” Coimbra: Revista Portuguesa Ciências Biomédicas, pp.32-39.

NABER, Kurt – “*Treatment options for acute uncomplicated cystitis in adults*” Volume 46. The British Society for Antimicrobial Chemotherapy: Germany, September 2000, pp.23-27.

NAVEEN R., MATHAI 2005. “*Some virulence characteristics of uropathogenic Escherichia coli in different patient groups.*” The Indian Journal of Medical Research. 112: 143-147.

OSSWALD, Walter; ESTEVES, Afonso et al – *Prontuário Terapêutico*1. Infarmed: Janeiro de 2000, pp.22-43.

PEDREIRA, W. ; PURTSCHER H. – “*Manual de infecciones urinarias*” Impresores Asociados S.A.: Uruguay, 1999. [Internet]. [cited 2009 January 17]; Available from: WWW.URL: <http://www.infecto.edu.uy/espanol/guiatrat/guiaatb/iu.htm>

PELCZAR, M. J., CHAN, E., & KRIEG, N. R. (1997) “*Microbiologia - Conceitos e Aplicações*” pp. 111-135 Brasil: Afiliada.

PUJOL, M., & al “*Guia para la practica clinica en infecciones del tracto urinario*” Revista Cubana Med Gen Integr ,2002, pp. 18(2).

RODRIGUES F., ALVES AF., LEMOS L. “*Infecções urinárias diagnosticadas no serviço de urgência: dados microbiológicos e implicações na terapêutica e profilaxia.*” Acta Pediátrica Portuguesa, Janeiro, Fevereiro 2006; 1 (37):5-8.

ROLO, F. et al “*Guia de prática clínica – Cistite não complicada na mulher*” Associação Portuguesa de Urologia, Lisboa, 2008; pp. 15 e 16. [cited July 2009] Available from: <http://www.apurologia.pt/pdfs/Guia-cistite.pdf>

RUIZ, J., & HORCAJADA, J. P. “*Differences in Virulence Factors among Clinical Isolates of E.coli causing Cystitis and Pyelonephritis in Women and Prostatitis in Men*” Journal of Clinical Microbiology, vol.40, no.12, Dec. 2002 , pp. 4445-4449.

SACHAIS, B., EDELSTEIN P. 2007 “*Antimicrobial Susceptibility testing. What does it mean?*” University of Pennsylvania Medical Center Guidelines for antibiotic use.

SAHM, Daniel; THORNSBERRY, Clyde et al – *Multidrug-resistant Urinary Tract Isolates of Escherichia coli: prevalence and patient demographics in the United States in 2000*. In Antimicrobial Agents and Chemotherapy: United States, May 2001, pp. 1402-1406.

SALAS, Martin; GIL-SETAS, A. et al – *Etiologia y sensibilidad antibiotica de las infecciones extrahospitalarias más frecuentes*. Volume 29, Nº1. In Sist. Sanit. Navar: Pamplona, 2006, pp.27-36.

SANTOS, A., CATELA, C., SERRÃO, M., & MORAIS, M. “*Etiologia das Infecções Urinárias em Crianças e Sensibilidade aos Antimicrobianos*” Revista Portuguesa das Ciências Biomédicas, 2008 , pp. 14-17.

SANTOS, C., CHAVES, M., & al “*Infecções urinárias em Pediatria:agentes e resistências na nossa Comunidade*” Saúde Infantil ,2005, pp. 37-44.

SCHOOFF, M. HILL, K. 2005 “*Antibiotics for recurrent urinary tract infections*”. American Family Physician. 71(/): 1301-2.

SEELEY, Rod et al – “*Aparelho Urinário*”, Anatomia & Fisiologia, 3º Edição. Lusodidacta: Lisboa, 1997, pp 909- 942.

SILVA, Manuel Mendes “*Intervenção farmacêutica na Infecção Urinária*” Revista Farmácia Portuguesa nº156, Março/Abril 2005, pp. 48-52, pp.62-67.

SILVA, Joana Filipa “*Prevalência de microrganismos nas ITU*” [dissertation] Laboratório Flemming Torrinha, 2007, Porto. pp. 25-29.

SOUSA, João Carlos “ *Antibióticos Anti-bacterianos*” Farmácias Portuguesas, Universidade do Porto, 1ª Edição Setembro, Porto 2001, pp. 29-66, pp.79-81, pp.151-168.

SOUSA, João Carlos “*Manual de Antibióticos Antibacterianos*” Edições Universidade Fernando Pessoa, Porto 2005, pp. 107, pp.423-467, pp.581-601, pp.613-635.

SUSAN A., MEHNERT-KAY S.A. 2005. “*Diagnosis and management of uncomplicated urinary tract infections*” American Family Physician. 72:451-456.

VENTURA, Conceição; “*Patologia Infecciosa durante a gravidez*” Monografia Beecham, Capítulo: Infecções Bacterianas, Infecções urinárias. Hospitais Universidade de Coimbra.

VIGOA AV. “*Infección urinaria en el adulto*” Infomed [Internet] 1998 Setembro Hospital Clínicoquirúrgico «Hermanos Ameijeiras» Rev.Cubana Med; 34(2) [cited 2008 Fevereiro] Available from: http://www.infomed.sld.cu/revistas/med/vol34_2_95/med06295.htm

WILSON, M.E. 1995 “*Travel in the emergence of infectious diseases*” Emerging Infectious Diseases. 1:39-46.

ZORC, Joseph; KIDOO, Darcie – “*Diagnosis and Management of Pediatric Urinary Tract Infections*” Clinical Microbiology Reviews, April 2005, pp.417-422.